

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**



P8019595A2: AGENT FOR PREVENTING GENERATION OF AMMONIA

[View Images \(1 pages\)](#) | [View INPADOC only](#)

JP Japan

TAMURA KOKICHI

MARUZEN PHARMACEUT CO LTD

[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Jan. 23, 1996 / July 5, 1994

JP1994000174848

A61L 9/01; A01K 1/015; A61F 13/15; C07G 17/00; C12N 9/99;

Purpose: To provide an agent for preventing generation of ammonia from urea under the presence of urease by using an urease inhibitor extracted from Rscus acule atus, Psidium quayava, Rosa rugosa, Rubussuavissimus, Artemisia princeps, Tamarindus indica, and Eribotrya japonica or the like, as an effective component.

Constitution: In enzyme urease produced by microorganism in excrements, urea in urine excreted from the human body reacts with water so as to produce ammonia and carbon dioxide gas, and thus produced ammonia increases the pH value of the skin so as to tend to cause diaper rash. Accordingly, natural urease inhibitor which is highly safe and easily usable, is extracted from Rscus acule atus, Psidium quayava, Rosa rugosa, Rubussuavissimus, Artemisia princeps, Tamarindus indica, and Eribotrya japonica or the like. Concentrate obtained by only removing an extracting solution from the this extract or a dry substance thereof is directly used as an ammonium generation preventing agent, or is dissolved in water, water-containing alcohol, 1,3-butylene glycol or the like so as to obtain a liquid solution or a power-like material.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

CHEMABS 124(18)241806B CAN124(18)241806B

Koenig et al.
Serial No. 10/029,404
Filed 12/20/2001
Our File KCC 4798 (14,442B)
Ref. No. 18

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-19595

(43)公開日 平成8年(1996)1月23日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 L 9/01	Z			
A 0 1 K 1/015	Z			
A 6 1 F 13/15				
// C 0 7 G 17/00	Z			
			A 4 1 B 13/02	N
			審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全6頁) 最終頁に統く	

(21)出願番号 特願平6-174848

(22)出願日 平成6年(1994)7月5日

(71)出願人 591082421

丸善製薬株式会社

広島県尾道市向東町14703番地の10

(72)発明者 田村 幸吉

広島県尾道市向東町14703-10丸善製薬株
式会社内

(74)代理人 弁理士 板井 一壇

(54)【発明の名称】 アンモニア発生防止剤

(57)【要約】

【構成】 ルスカス、グアバ、マイカイ、ルブス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、または柿より抽出されたウレアーゼ阻害物質を、尿素からウレアーゼの作用によってアンモニアが発生するのを防止するのに用いる。

【効果】 植物体由来のウレアーゼ阻害物質からなるので安全性が高く、糞尿からの悪臭発生の予防やおむつかぶれの予防に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ルスカス、グアバ、マイカイ、ルブス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、または柿より抽出されたウレアーゼ阻害物質を含有することを特徴とするアンモニア発生防止剤。

【請求項2】 ルスカス、グアバ、マイカイ、ルブス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、または柿を、低級脂肪族アルコール、低級アルキルケトン、低級脂肪酸エステル、ハロゲン化炭化水素、水、およびこれらの混合物からなる群から選ばれた抽出溶媒で抽出処理して得られた抽出物を含有することを特徴とするアンモニア発生防止剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ウレアーゼの存在下に尿素からアンモニアが生じるのを防止するアンモニア発生防止剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 粪便中の微生物が產生する酵素・ウレアーゼは、生体外に排泄された尿中の尿素が水と反応してアンモニアと炭酸ガスを生じる反応を触媒する酵素である。人や家畜の糞尿が環境中に放置された場合、尿中の尿素は上記酵素反応を起こし、生成したアンモニアは大気中に拡散して強い不快臭を感じさせることになる。

【0003】 また、糞尿で汚れたおむつが交換される前に上記酵素反応が生じると、生成したアンモニアが皮膚のpHを上昇させ、それによりプロテアーゼやリパーゼの活性を高めておむつかぶれを誘発すると考えられている。

【0004】 そこで、尿素からアンモニアが生じる可能性のある場においてはウレアーゼが作用しないようにしてアンモニアの発生を防止することが、アンモニアによる悪臭やおむつかぶれの防止に有効な手段となる。そのために使用可能なウレアーゼ阻害作用を有する物質としては、従来、ヒドロキサム系両性界面活性剤、リン酸アミド誘導体、クエン酸、リンゴ酸、フマル酸、リン酸等が知られている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、安全性が高く使用しやすい天然物系のウレアーゼ阻害物質を見いだし、該ウレアーゼ阻害物質からなる新規なアンモニア発生防止剤を提供し、人や動物の糞尿からの悪臭発生の予防、おむつかぶれの予防等を容易にすることにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明が提供することに成功したアンモニア発生防止剤は、ルスカス、グアバ、マイカイ、ルブス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、または柿より抽出されたウレアーゼ阻害物質を有効成分とするものである。

【0007】 ここで、ルスカスとはユリ科植物 *Ruscus aculeatus* の地下部を意味する。グアバとは、フトモモ科植物 *Psidium guayava* の葉部を意味する。マイカイとは、バラ科植物 *Rosa rugosa* の花部を意味する。ルブスとは、バラ科植物 *Rubus suavissimus* の葉部を意味する。ヨモギとは、キク科植物 *Artemisia princeps* の地上部を意味する。タマリンドとは、マメ科植物 *Tamarindus indica* の種皮を意味する。ユキノシタとは、ユキノシタ科植物 *Saxifraga stolonifera* の地上部を意味する。ビワとは、バラ科植物 *Eriobotrya japonica* の葉部を意味する。また、柿とは、カキノキ科植物 *Diospyros kaki* の葉部を意味する。

【0008】 アンモニアの発生を防止するのに有効なウレアーゼ阻害物質は、ルスカス、グアバ、マイカイ、ルブス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、または柿を、低級脂肪族アルコール、低級アルキルケトン、低級脂肪酸エステル、ハロゲン化炭化水素、水、およびこれらの混合物からなる群から選ばれた抽出溶媒で抽出処理すると抽出されて来る（ただし、抽出に使用可能な溶媒はこれらに限定されるわけではない。）。

【0009】 抽出は、処理し易いように乾燥しさらに必要に応じて粉碎した原料植物体を、常温または加温状態で抽出溶媒に浸漬すればよいが、ほかにも任意の抽出方法を採用することができる。好ましい抽出溶媒の具体例としては、メタノール、エタノール、ブタノール、アセトン、メチルエチルケトン、酢酸エチル、塩化メチレン、水等がある。親水性有機溶媒は、約20倍量までの水との混合物として用いることができる。これらの中でも、メタノール、エタノール、ブタノール、アセトン、またはこれらと水との混合物は、ウレアーゼ阻害活性の強い抽出物を高収率で与えるので特に好ましい。

【0010】 ルスカス等、前記植物体から抽出されるウレアーゼ阻害物質の本体はまだ確認されていないが、ボリフェノール性化合物と推察される。

【0011】 ウレアーゼ阻害物質を含有する抽出物は、抽出溶媒を留去しただけの濃縮物またはその乾燥物をそのまま本発明のアンモニア発生防止剤として使用することができるが、必要ならば、脱色、脱臭、あるいはウレアーゼ阻害物質の濃縮に有効な任意の精製処理を施してからアンモニア発生防止剤に用いてもよい。抽出物のウレアーゼ阻害活性は、後記実施例1に記載した方法により確認することができる。

【0012】 ルスカス等から抽出されたウレアーゼ阻害物質またはそれを含有する上記植物体抽出物は、水、含水アルコール、1,3-ブチレングリコール等に溶解した溶液状で、あるいは粉末状で、本発明のアンモニア発生防止剤とする。溶液状の製品とする場合、濃度は特に限定されるものではないが、ウレアーゼ阻害物質を含有する植物体抽出物を用いる場合で0.00001~1.0重量%が適当であり、特に好ましい濃度は0.001~1.0

重量%である。

【0013】本発明のアンモニア発生防止剤には、上述の植物体由来のウレアーゼ阻害物質と共に他のウレアーゼ阻害物質を含有させてもよい。また、本発明のアンモニア発生防止剤を消臭剤、おむつかぶれ防止剤等に製剤化する場合は、ウレアーゼ阻害とは別の機構による消臭作用を有する物質、たとえば緑茶抽出物、ウラジロガシ抽出物、クロロフィル、フラボノイド等を併用してもよい。

【0014】本発明のアンモニア発生防止剤は、ウレアーゼの存在下に尿素からアンモニアが生成するのを防止することが望まれるあらゆる場所に任意の方法で利用することができる。たとえばくみ取り式便所、家畜の畜舎、愛玩動物の飼育室もしくは排泄場所等におけるアンモニア臭の解消が望まれている場合は発生原因箇所やそ*

ウレアーゼ阻害活性測定法：

0.1%尿素溶液 20 μl

ウレアーゼ溶液 (20unit/ml, pH7.0リン酸緩衝液) 100 μl

フェノール・ニトロブルシドナトリウム試液 (日本薬局方) 1.0 ml

ルスカス抽出物溶液 100 μl

上記各溶液を試験管中でよく混合し、37℃に15分間加温した後、次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム (日本薬局方) 1.0 mlを加えてさらに10分間37℃に加温する。上記酵素反応終了後、および上記4種類の溶液を混合した直後の混合液について、フェノール・ニトロブルシドナトリウム試液から生成したインドフェノールの量に比例する波長640 nmの吸光度を測定する。また、コントロールとして、ルスカス抽出物溶液の代わりに水を加えた場合について、同様の操作と吸光度測定を行う。

【0017】測定結果から、下記の計算式によりウレアーゼ活性の阻害率を算出する。

阻害率 (%) = [(1 - (A₁ - A₀) / (A₃ - A₂)) × 100

ただし、A₀：ルスカス抽出物を添加した場合の吸光度；酵素反応開始前

A₁：ルスカス抽出物を添加した場合の吸光度；酵素反※

*の周辺に散布もしくは噴霧する。畜舎の敷藁や愛玩動物の排泄物吸収材等にあらかじめ付着させておいてよい。尿素から発生するアンモニアによるおむつかぶれの防止に使用する場合は、噴霧、浸漬、塗布等の方法によりおむつに付着させておく。

【0015】

【実施例】

実施例1

粉碎したルスカス 100 g に 50% エタノール 1000 ml を加え、40℃で 24 時間静置して可溶性成分を抽出する。抽出液は減圧下に濃縮乾固し、乾燥物を得る。得られたルスカス抽出物について、下記の方法でウレアーゼ阻害活性を測定する。

【0016】

※応終了後

A₂：コントロール；酵素反応開始前

A₃：コントロール；酵素反応終了後

【0018】種々の濃度のルスカス抽出物溶液について上記測定を行い、阻害率が 50% になるルスカス抽出物濃度・IC₅₀ 値を求める。同じ原料について、抽出溶媒を変えて同様の抽出処理を行い、得られた抽出物について IC₅₀ 値を求める。

【0019】上記方法によりルスカス抽出物の調製とウレアーゼ阻害活性の測定を行い、さらに、グアバ、マイカイ、ルブス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、および柿についても同様にして抽出物の調製とウレアーゼ阻害活性の測定を行なった。その結果を表1～表9に示す。

【0020】

【表1】 ルスカス抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物の IC ₅₀ (μg/ml)
水	13.2	690
水/エタノール混液 (1/1)	30.0	550
エタノール	32.6	500
メタノール	34.3	520
水/メタノール混液 (1/1)	30.8	550
アセトン	24.8	730
水/アセトン混液 (1/1)	26.1	490
n-ブタノール	8.2	880
酢酸エチル	2.5	900
塩化メチレン	0.4	950

【0021】

【表2】 グアバ抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物の IC ₅₀ (μg/ml)
------	------------	-------------------------------

5

6

水	9	320
水／エタノール混液 (1/1)	17	140
エタノール	7	200
メタノール	10	190
水／メタノール混液 (1/1)	19	110
アセトン	8	380
水／アセトン混液 (1/1)	14	200
■-ブタノール	6	590
酢酸エチル	4	890
塩化メチレン	1	950

[0022]

* * 【表3】マイカイ抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	20	410
水／エタノール混液 (1/1)	23	150
エタノール	10	230
メタノール	20	210
水／メタノール混液 (1/1)	29	290
アセトン	6	330
水／アセトン混液 (1/1)	14	280
■-ブタノール	4	720
酢酸エチル	2	970
塩化メチレン	2	890

[0023]

※ ※ 【表4】ルブス抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	11	510
水／エタノール混液 (1/1)	31	300
エタノール	25	280
メタノール	21	320
水／メタノール混液 (1/1)	33	290
アセトン	19	450
水／アセトン混液 (1/1)	21	350
■-ブタノール	6	690
酢酸エチル	3	730
塩化メチレン	1	790

[0024]

★ ★ 【表5】ヨモギ抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	12	1030
水／エタノール混液 (1/1)	29	470
エタノール	27	560
メタノール	26	600
水／メタノール混液 (1/1)	30	530
アセトン	13	750
水／アセトン混液 (1/1)	25	520
■-ブタノール	10	920
酢酸エチル	3	1320
塩化メチレン	0.8	1640

[0025]

【表6】タマリンド抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	13	390
水／エタノール混液 (1/1)	30	100

7

8

エタノール	3 3	2 0 0
メタノール	3 4	1 2 0
水／メタノール混液 (1/1)	2 1	1 0 0
アセトン	2 3	3 1 0
水／アセトン混液 (1/1)	3 0	1 2 0
■-ブタノール	1 6	4 3 0
酢酸エチル	9	8 0 0
塩化メチレン	0 . 4	7 2 0

【0026】

* * 【表7】 ユキノシタ抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	1 4	5 0 0
水／エタノール混液 (1/1)	1 5	2 8 0
エタノール	4	4 2 0
メタノール	6	4 6 0
水／メタノール混液 (1/1)	1 6	3 0 0
アセトン	4	5 4 0
水／アセトン混液 (1/1)	1 1	2 9 0
■-ブタノール	3	6 4 0
酢酸エチル	2	7 4 0
塩化メチレン	1	7 7 0

【0027】

* * 【表8】 ピワ抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	1 2	3 3 0
水／エタノール混液 (1/1)	1 5	2 9 0
エタノール	9	3 1 0
メタノール	1 1	3 0 0
水／メタノール混液 (1/1)	1 9	2 4 0
アセトン	7	5 3 0
水／アセトン混液 (1/1)	1 3	2 3 0
■-ブタノール	6	6 0 0
酢酸エチル	3	7 9 0
塩化メチレン	0 . 9	7 3 0

【0028】

★ ★ 【表9】 柿抽出物

抽出溶媒	抽出物収率(重量%)	抽出物のIC ₅₀ (μg/ml)
水	1 0	1 9 0
水／エタノール混液 (1/1)	1 0	1 7 0
エタノール	9	2 1 0
メタノール	1 1	2 4 0
水／メタノール混液 (1/1)	1 5	1 5 0
アセトン	6	4 2 0
水／アセトン混液 (1/1)	1 1	1 8 0
■-ブタノール	5	5 8 0
酢酸エチル	2	7 4 0
塩化メチレン	2	8 8 0

【0029】実施例2

実施例1による各植物体の水／エタノール混液抽出物を10%エタノール水溶液に溶解して濃度1000ppmの溶液を調製し、その50mlを手動ポンプ式噴霧器で100gの葉に噴霧した。処理後の葉を風乾後、プラスチック製パットに入れ、そこに人工尿(尿素1.7%, 食塩

1.5%, pH 6.0) 500mlを、ウレアーゼ200単位と混合して注いだ。室温で3日間保存した後、葉の上の空間のアンモニア濃度を測定した。

【0030】対照として、水／エタノール混液抽出物を含まない10%エタノール水溶液50mlを最初に噴霧したほかは同様にして人工尿とウレアーゼを注いだ場合に

ついて、同様の測定を行なった。

【0031】その結果、対照区では500 ppmのアンモニアが検出されたのに対し、あらかじめ水／エタノール混液抽出物の溶液を噴霧しておいた試験区の場合はいずれの植物体抽出物の場合もアンモニアは検出されなかつた（検出限界10 ppm）。

【0032】また、アンモニア濃度の測定と併せて10名のパネラーによる官能検査を行なったところ、対照区についてはいずれも10名全員がアンモニアの不快臭を感じたのに対し、試験区についてはアンモニア臭を感じなかつた者1名、僅かにアンモニア臭を感じた者9名であつた。

【0033】実施例3

実施例1によるルイボス水抽出物を10%エタノール水溶液に溶解して濃度1000 ppmの溶液を調製し、それ

を木綿のおむつに、おむつ一枚（約50 g）当たり10 mlの割合で塗布し、乾燥した。このルイボス抽出物処理済みおむつを、乳児10人に4週間着用させた。対照区の10人には、無処理のおむつと同じ条件で着用させた。

【0034】試験期間終了後、対照区では10人中3人におむつかぶれが認められたが、ルイボス抽出物処理済みおむつ着用区の10人にはかぶれは認められなかつた。

【0035】

【発明の効果】本発明のアンモニア発生防止剤は植物体由来のウレアーゼ阻害物質からなるので安全性が高く、生物分解性も良好と考えられるので、糞尿からの悪臭発生の予防やおむつかぶれの予防に、環境に悪影響を及ぼすおそれなしに隨時使用することができる。

フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁶

識別記号 庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 12 N 9/99